

精蛋白重组人胰岛素注射液（预混 50/50）与 50/50 混合重组人胰岛素注射液在 Beagle 犬体内的生物等效性研究

慈小燕¹, 李 薇¹, 高 晶¹, 武卫党¹, 李亚卓¹, 魏滋鸿¹, 董 艳¹, 伊秀林¹, 曾 勇^{1*}, 江立新^{2*}, 孙 磊², 周 伟²

1. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193
2. 合肥天麦生物科技发展有限公司, 安徽 合肥 230601

摘要: 目的 研究精蛋白重组人胰岛素注射液（预混 50/50）与已上市的 50/50 混合重组人胰岛素注射液在 Beagle 犬体内的药动学和生物等效性。方法 采用单剂量试验制剂和参比制剂自身双交叉给药方案, 12 只健康 Beagle 犬分别皮下注射同剂量精蛋白重组人胰岛素注射液（预混 50/50）和 50/50 混合重组人胰岛素注射液, 给药后不同时间经静脉采集血浆标本, 同时采用罗氏血糖仪同步测定动物血糖水平; 放射免疫分析 (RIA) 法检测血药浓度; 血药浓度数据用 DAS 2.0 药动学软件拟合计算参数, 并进行生物等效性分析。结果 Beagle 犬交叉 sc 5 U/只试验制剂与参比制剂后, 主要药动学参数分别为: 平均 $t_{1/2}$ 为 (2.62±2.14)、(1.99±1.37) h; 平均 C_{max} 为 (108.30±26.90)、(104.60±18.45) $\mu\text{U}/\text{mL}$; 平均 t_{max} 为 (0.94±0.43)、(0.90±0.39) h; 平均 $AUC_{(0-t)}$ 为 (362.3±73.6)、(351.7±53.9) $\mu\text{U}/(\text{mL}\cdot\text{h})$ 。血浆最低葡萄糖浓度 (C_{min}) 分别为 (1.74±0.25)、(1.80±0.33) mmol/L, 达到最低浓度所需时间 (t_{min}) 分别为 (1.58±0.97)、(2.02±0.96) h。结论 精蛋白重组人胰岛素注射液（预混 50/50）与 50/50 混合重组人胰岛素注射液在 Beagle 犬体内具有生物等效性。

关键词: 精蛋白重组人胰岛素注射液（预混 50/50）; 50/50 混合重组人胰岛素注射液; 药动学; 生物等效性

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)09-1057-06

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2015.09.002

Bioequivalence of Isophane Protamine Recombinant Human Insulin Injection (pre-mixed 50/50) and 50/50 Mixture Recombinant Human Insulin Injection after sc administration in Beagle dogs

CI Xiao-Yan¹, LI Wei¹, GAO Jing¹, WU Wei-Dang¹, LI Ya-Zhuo¹, WEI Zi-Hong¹, DONG Yan¹, YI Xiu-Lin¹, ZENG Yong¹, JIANG Li-Xin², SUN Lei², ZHOU Wei²

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China
2. Hefei Tianmai Biotechnology Development Co., Ltd., Hefei 230601, China

Abstract: Objective To investigate the pharmacokinetic and bioequivalence of Isophane Protamine Recombinant Human Insulin Injection (pre-mixed 50/50) and 50/50 Mixture Recombinant Human Insulin Injection after sc administration in Beagle dogs. **Methods** Twelve healthy Beagle dogs were divided into two groups, and the dogs in two groups were separately single sc injected with Isophane Protamine Recombinant Human Insulin Injection (pre-mixed 50/50) and 50/50 Mixture Recombinant Human Insulin Injection in the same dose according to a randomized two-phase crossover. The plasma was sampled at different time points after sc administration, and the blood glucose levels were determined by Roche Glucose meter synchronously. The radioimmunoassay (RIA) method was used to determine the concentration of blood insulin at the different sample points. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 Software. **Results** Beagle's dogs were treated with test preparation and reference preparation following single sc administration at the dose of 5 U/animal. The main pharmacokinetic parameters of test preparation and reference preparation were as

收稿日期: 2015-05-20

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2012ZX09304002)

作者简介: 慈小燕 (1987—), 女, 研究实习员, 研究方向为药动学。Tel: (022) 84845243 E-mail: cxy871005@yeah.net

*通信作者 曾 勇 (1965—), 男, 副研究员, 研究方向为药代动力学。Tel: (022) 84845243 E-mail: zengy@tjipr.com

江立新 (1966—), 男, 硕士, CEO, 研究方向为制药工程和质量。Tel: (0551) 63849091 E-mail: jianglixin@htbt.com.cn

following: The elimination half-life ($t_{1/2}$) was (2.62 ± 2.14) and (1.99 ± 1.37) h, the peak concentration (C_{max}) was (108.30 ± 26.90) and (104.60 ± 18.45) $\mu\text{U}/\text{mL}$, the peak time (t_{max}) was (0.94 ± 0.43) and (0.90 ± 0.39) h, and the area under the concentration - time curve ($AUC_{(0-t)}$) was (362.3 ± 73.6) and (351.7 ± 53.9) $\mu\text{U}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, respectively. What's more, the minimum blood glucose levels (C_{min}) of the tested and referenced samples were (1.74 ± 0.25) and (1.80 ± 0.33) mmol/L, respectively, and the t_{min} (time to reach minimum blood glucose level) was (1.58 ± 0.97) and (2.02 ± 0.96) h, respectively. **Conclusion** Isophane Protamine Recombinant Human Insulin Injection (pre-mixed 50/50) and 50/50 Mixture Recombinant Human Insulin Injection are bioequivalent in the therapy effect.

Key words: Isophane Protamine Recombinant Human Insulin Injection (pre-mixed 50/50); 50/50 Mixture Recombinant Human Insulin Injection; pharmacokinetic; bioequivalence

糖尿病是由遗传和环境因素相互作用而引起的以慢性高血糖为特征的代谢性疾病。长期的高血糖及其所伴随的蛋白质、脂肪代谢异常引起心、脑、肾、神经血管等组织的结构和功能发生异常,甚至会造成器官功能衰竭而危及生命。糖尿病是继心脑血管、癌症之后严重威胁人类健康的第3大疾病^[1-4]。糖尿病患者出现的血糖异常有两种情况:一是空腹血糖高,二是餐后血糖高。如何兼顾空腹和餐后血糖的平稳控制是临床上需解决的问题。一种有效的制剂方案就是将降低餐后血糖的餐时胰岛素和降低空腹血糖的基础胰岛素按一定比例预先混合制成预混胰岛素,其共同特点是双时相作用,即混合后两种胰岛素各自发挥作用,相当于一次注射了短效和中效胰岛素,既能利用短效胰岛素解决餐后高血糖,又有中效胰岛素延长血糖控制时间,同时控制空腹血糖。预混胰岛素制剂已普遍被应用于需要胰岛素治疗的2型糖尿病患者,其主要优点是能够减少每日所必须注射的次数,尤其是对于那些不愿意或不能用更复杂的给药方案治疗的患者。目前常用的预混胰岛素制剂有一种是50%的短效人胰岛素和50%中效人胰岛素的混合制剂。本实验采用Beagle犬自身双交叉sc给药方法,研究精蛋白重组人胰岛素注射液(预混50/50)与已上市的同类制剂50/50混合重组人胰岛素注射液的生物等效性,为下一步的临床研究提供参考。

1 材料

1.1 试验药物

精蛋白重组人胰岛素注射液(预混50/50)为试验制剂,由合肥天麦生物科技发展有限公司提供,规格300 U/3mL/支,批号F201206011;50/50混合重组人胰岛素注射液为参比制剂,由通化东宝药业股份有限公司出品,规格3 mL:300 U,批号5M111050004。

1.2 试验动物

Beagle犬12只,雌雄各6只,体质量10.0~11.5

kg,购自北京玛斯生物技术有限责任公司,许可证编号SCXK(京)2011-0003。

1.3 试验试剂

人胰岛素放射免疫测定试剂盒(批号HI-14K)、犬C肽放射免疫测定试剂盒(批号CCP-24HK)均为美国Millipore公司产品。

1.4 主要仪器

WIZARD2 2470自动伽马计数器(美国PE公司),卓越型ACCU血糖测试仪及配套的卓越金锐血糖试纸(Roche Diagnostics GmbH,血糖检测范围1.7~19.6 mmol/L,试纸批号470796),DL-5型冷冻离心机(湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 试验设计

单剂量试验制剂、参比制剂自身双交叉sc动物生物等效性试验,sc剂量为5 U/只。

2.2 动物分组

试验前分性别对动物编号为1~12号,其中单号雄性,双号为雌性。第1次实验时1~6号给以试验制剂,7~12号给以参比制剂,第2次实验时交换剂型给药;两次实验间洗脱期1周。动物给药后6 h统一饲喂。

2.3 给药及血样采集

实验给药前一天21:30动物进食晚餐后禁食(采血结束后进食)。于次日9:00开始,分别给予试验制剂或参比制剂,给药浓度为5 U/mL,给药体积为0.1 mL/kg,并于给药前以及给药后0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8 h从前肢静脉采血2.5 mL,一滴全血即刻用于血糖测定,其余肝素抗凝,低温(4℃)、3 500 r/min离心15 min,分离血浆,置于2个EP管中,立即-80℃冰冻保存待测。

2.4 Beagle犬血浆胰岛素测定的本底扣除方法

正常动物体内含有内源性胰岛素,会干扰试验中血药浓度的检测,因此需要将内源性胰岛素扣除,以排除对外源性胰岛素测定的影响。通常胰岛素和

C肽在体内是等分子分泌，测定血浆中犬C肽水平可用于校正内源性胰岛素的水平。

采用人胰岛素放射免疫测定试剂盒，与胰岛素同步检测血浆中犬C肽浓度以扣除犬内源胰岛素对外源性胰岛素测定的影响。采用高灵敏度的放射免疫(RIA)法测定各时间点采集血浆样品的总胰岛素及犬C肽浓度，计算外源胰岛素。

$$I_{ex(t)} = I_{t0(t)} - [C_{(t)}I_{(t=0)}/C_{(t=0)}]$$

$I_{ex(t)}$ 是注射后 t 时间的外源胰岛素浓度， $I_{t0(t)}$ 是注射后 t 时间的总胰岛素浓度， $C_{(t)}$ 是 t 时的C肽浓度， $I_{(t=0)}$ 是初始内源性胰岛素浓度， $C_{(t=0)}$ 是初始时C肽浓度^[5-6]

2.5 犬血浆样品中人胰岛素的放射免疫法测定

2.5.1 样品测定方法 取放免试管编号，按“Millipore 人胰岛素特异试剂盒测定原理及方法”进行操作，最后在伽马计数器上测得各管放射计数CPM，计算各管计数与零标准管计数的比值 B/B_0 。

2.5.2 标准曲线和样品浓度计算 标准曲线是用分析缓冲液将测定试剂盒所带的人胰岛素标准溶液(200 $\mu\text{U}/\text{mL}$)稀释成浓度分别为200、100、50、25、12.5、6.25、3.125 $\mu\text{U}/\text{mL}$ 系列标准工作液，每个浓

度平行做两管，取平均值。结果经 Origin 7.0 软件进行数据处理，即可得到标准曲线。浓度在 3.125~200 $\mu\text{U}/\text{mL}$ 时，与 B/B_0 符合四参数方程： $Y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (X/X_0)^P]$ 。药物浓度与 B/B_0 的线性相关系数 $r = 0.999 \pm 0.001$ ， ED_{20} 、 ED_{50} 、 ED_{80} 在标准曲线范围内，以上结果均符合放射免疫测定方法的质量要求。

X 为待测样品浓度， Y 为测得的 B/B_0 值， X_0 为 $B/B_0 = 50\%$ 对应的样品浓度， P 为标准曲线斜率， A_1 、 A_2 分别是反S型曲线上渐进线和下渐进线的估计值。

本法的最低定量限为标准曲线的最低浓度点，即为 3.125 $\mu\text{U}/\text{mL}$ 。

2.5.3 回收率试验 正常 Beagle 犬血浆中含有一定量的犬胰岛素本底，在其中加入 15、40、150 $\mu\text{U}/\text{mL}$ 人胰岛素，测定后扣除本底，计算相对回收率，结果见表1。

2.5.4 精密度和准确度试验 在正常 Beagle 犬血浆中，加入用分析缓冲液稀释得到 15、40、150 $\mu\text{U}/\text{mL}$ 人胰岛素，测定批内和批间的准确度和精密度，结果见表2。

表1 放免法测定 Beagle 犬血浆样品中人胰岛素的回收率 ($n=5$)

Table 1 Recovery of human insulin in plasma of Beagle dog samples using RIA method ($n = 5$)

加入量/ $(\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1})$	测定值/ $(\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1})$	回收率	RSD/%
0	9.41 ± 0.44		
15	25.43 ± 0.67	106.8	2.6
40	50.23 ± 1.25	102.1	2.5
150	169.16 ± 12.49	106.5	7.4

表2 放免法测定 Beagle 犬血浆样品中人胰岛素的精密度和准确度 ($n=15$)

Table 2 Precision and accuracy of human insulin in plasma of Beagle dogs using RIA method ($n = 15$)

浓度/ $(\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1})$	测定浓度/ $(\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1})$	批内 RSD/%	批间 RSD /%	RE/%
9.30	9.30 ± 0.48	5.47	3.09	
24.30	25.91 ± 1.09	4.22	4.04	6.6
49.30	51.53 ± 1.40	2.01	5.26	4.5
159.30	167.61 ± 10.80	6.46	6.34	5.2

2.5.5 健全性、特异性和样品稳定性试验 将高浓度样品用分析缓冲液稀释后测定，测定值与稀释度 $r = 0.9995$ ，表明在标准曲线浓度范围内，稀释样品基本不影响测定结果。在正常 Beagle 犬血浆中，加入不同浓度的人胰岛素后得到4种浓度的血样，-80

$^{\circ}\text{C}$ 保存 28 d 后测定，结果样品的 RE 为 -9.7%~4.4%，说明在该保存条件下样品可以保持稳定。本试剂盒对人胰岛素和犬胰岛素的检测能力完全一致(100%交叉反应)，而与人前胰岛素基本无交叉反应(<0.2%)。

2.6 犬血浆样品中犬 C 肽浓度的放射免疫测定

2.6.1 样品测定方法 取放免试管编号, 按“Millipore 人胰岛素特异试剂盒测定原理及方法”进行操作, 最后在伽马计数器上测得各管放射计数 CPM, 计算各管计数与零标准管计数的比值 B/B_0 。

2.6.2 标准曲线和样品浓度计算 用分析缓冲液将测定试剂盒所带的 20 ng/mL 犬 C 肽标准溶液稀释成浓度分别为 20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.312 5 ng/mL 系列标准工作液, 每个浓度平行做两管, 取平均值。结果经 Origin 7.0 软件进行数据处理, 即可得标准曲线。浓度在 0.312 5~20 ng/mL 时, 与 B/B_0 符合四参数方程: $Y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (X/X_0)^P]$ 。药物浓度与 B/B_0 的数 $r = 0.999 \pm 0.000$, ED_{20} 、 ED_{50} 、 ED_{80} 在标准曲线范围内, 以上结果均

符合放免测定方法的质量要求。

X 为待测样品浓度, Y 为测得的 B/B_0 值, X_0 为 $B/B_0 = 50\%$ 对应的样品浓度, P 为标准曲线斜率, A_1 、 A_2 分别是反 S 型曲线上渐进线和下渐进线的估计值 (根据标准品测量值计算机能自动算出)

本法的最低定量限为标准曲线的最低浓度点, 即为 0.3125 ng/mL。

2.6.3 回收率试验 正常 Beagle 犬血浆中加入 1.5、3.5、10 ng/mL 犬 C 肽, 用本法测定后扣除本底计算相对回收率, 结果见表 3。

2.6.4 精密度和准确度试验 在正常 Beagle 犬血浆中, 加入用分析缓冲液稀释得到的不同浓度 (0.9、3.0、10.0 ng/mL) 的犬 C 肽, 测定批内和批间的准确度和精密度, 结果见表 4。

表 3 放免法测定 Beagle 犬血浆样品中 C 肽的相对回收率 ($n=5$)

Table 3 Recovery of C peptide in plasma samples of Beagle dog using RIA method ($n = 5$)

加入量/(ng·mL ⁻¹)	测定值/(ng·mL ⁻¹)	回收率	RSD/%
0	0		
1.5	1.54±0.09	102.6	5.8
3.5	3.44±0.21	98.4	6.1
10	9.71±0.76	97.1	7.8

表 4 放免法测定 Beagle 犬血浆样品中犬 C 肽的精密度和准确度 ($n=15$)

Table 4 Precision and accuracy of C peptide in plasma samples of Beagle dogs using RIA method ($n = 15$)

浓度/(ng·mL ⁻¹)	测定浓度/(ng·mL ⁻¹)	批内 RSD/%	批间 RSD/%	RE/%
0.9	0.87±0.08	8.59	13.56	-3.5
3.0	2.93±0.23	7.10	10.50	-2.2
10.0	10.00±1.00	7.76	18.53	0.0

2.6.5 健全性和样品稳定性试验 将高浓度样品用分析缓冲液倍比稀释后测定, 测量值与稀释度 $r = 0.997 2$, 表明在标准曲线浓度范围内, 稀释样品基本不影响测定结果。在正常 Beagle 犬血浆中, 加入不同浓度的犬 C 肽后得到 3 种浓度的血样, $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存 28 d 后测定, 样品测定 RE 为 $-9.9\% \sim -1.9\%$, 提示在该保存条件下样品可以保持稳定。

2.7 数据分析

采用 DAS2.0 药动力学计算程序软件进行药动力学参数计算和生物等效性分析。用成对 t 检验比较动物交叉给药后 C_{\min} 、 t_{\min} 的差异, 绘出平均血糖浓度-时间曲线。

3 结果

3.1 胰岛素血药浓度测定

12 只健康 Beagle 犬 sc 试验制剂、参比制剂后, 测得的各时间点血浆样品的总胰岛素浓度, 扣除本底后得到各时间点外源胰岛素浓度值。外源胰岛素平均药时曲线见图 1。

3.2 试验制剂与参比制剂生物等效性

将外源胰岛素浓度的数据用 DAS2.0 药动力学计算程序软件进行生物等效性分析, 12 只 Beagle 犬交叉 sc 试验制剂、参比制剂后, 以血浆外源性胰岛素浓度计算得到的主要药动力学参数, 见表 5。根据双向单侧 t 检验、 $[1-2\alpha]$ 置信区间法、配对 Wilcoxon 法比较 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 、 C_{\max} 、 t_{\max} , 计算所得的结果均显示这 2 种制剂具有生物等效性, 见表 6~8。

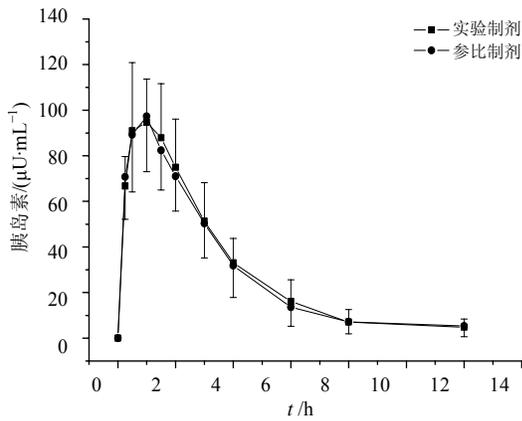


图1 Beagle犬sc试验制剂、参比制剂后的外源胰岛素平均药时曲线

Fig. 1 Mean plasma concentration - time curves after sc administration of test and reference drugs in Beagle dogs

表5 Beagle犬sc受试制剂和参比制剂后药动学参数比较
Table 5 Comparison on pharmacokinetic parameters after sc administration of tested and reference drugs in Beagle dogs

参数	单位	试验制剂	参比制剂
$t_{1/2}$	h	2.62 ± 2.14	1.99 ± 1.37
C_{max}	$\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	108.30 ± 26.90	104.60 ± 18.45
t_{max}	h	0.94 ± 0.43	0.90 ± 0.39
$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	362.3 ± 73.6	351.7 ± 53.9
$AUC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	378.1 ± 68.7	363.9 ± 51.1

表6 C_{max} 与 $AUC_{(0-t)}$ 等效性分析(双向单侧t检验)

Table 6 C_{max} and $AUC_{(0-t)}$ equivalence analysis (two-direction one - side t test)

项目	与下限比 t_L	与上限比 t_H	P值	结论
C_{max}	5.807	5.201	0.000	合格
$AUC_{(0-t)}$	3.871	3.219	0.002	合格

表7 C_{max} 与 $AUC_{(0-t)}$ 等效性分析(置信区间法)

Table 7 C_{max} and $AUC_{(0-t)}$ equivalence analysis (confidence level)

项目	等效标准/%	置信区间/%	总体相对生物利用度/%	结论
C_{max}	70.0~143.0	90.7~114.8	102.0	合格
$AUC_{(0-t)}$	80.0~125.0	91.1~114.4	102.1	合格

表8 t_{max} 非参检验(配对Wilcoxon法)结果

Table 8 Non-parameter test of t_{max} (by paired Wilcoxon)

项目	参比制剂	试验制剂	P值	结论
$x \pm s$	0.90 ± 0.39	0.94 ± 0.43	>0.05	合格
Max-Min	1.50-0.25	1.50-0.25		
Median	1	1		

3.3 试验制剂与参比制剂的药效动力学比较

12只Beagle犬sc试验制剂、参比制剂后,绘制平均血糖-时间曲线,见图2,可以看出试验制剂与参比制剂在Beagle犬体内降血糖过程非常一致。两个制剂的平均 t_{min} 和平均 C_{min} 结果见表9,采用成对t检验分析两个制剂,结果显示 t_{min} 、 C_{min} 均无统计学差异。

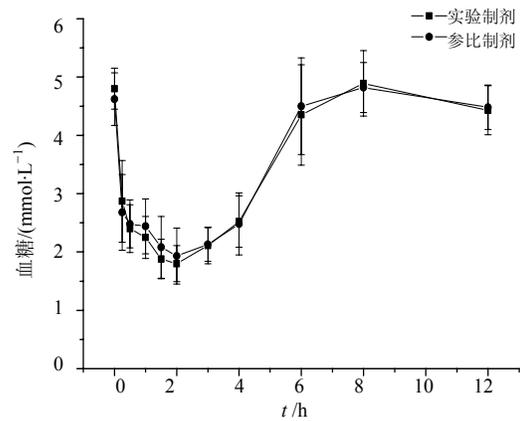


图2 Beagle犬双交叉给药后平均血糖浓度-时间曲线

Fig. 2 Mean blood glucose - time curves after sc administration in Beagle dogs

表9 Beagle犬给药试验制剂和参比制剂后血糖 t_{min} 、 C_{min}

Table 9 t_{min} and C_{min} after sc administration of test and reference drugs in Beagle dogs

制剂	t_{min}/h	$C_{min}/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	P值(成对t检验)
试验制剂	1.58 ± 0.97	1.74 ± 0.25	>0.05
参比制剂	2.02 ± 0.96	1.80 ± 0.33	>0.05

4 讨论

放射免疫分析法是最早建立的一种免疫分析法,是放射性同位素测定法与免疫反应基本原理相结合的一种同位素分析技术。采用放射免疫分析法检测血药浓度,检测方法可靠、灵敏度高、特异性强,快速、简便等特点,完全符合生物样本分析要求。

胰岛素的种属差异极小, 如人胰岛素与犬胰岛素就具有 100%交叉反应, 使用目前的免疫测定方法不能将外源性胰岛素与体内的内源性胰岛素区别。体内胰岛素水平受血糖及其他激素的复杂调控, 一直处在不断变化中, 会明显干扰外源胰岛素的测定。在胰岛素制剂生物利用度研究当中, 如何进行背景扣除就成为重要问题。内源性胰岛素是由体内胰岛素原经酶降解而成, 每生成 1 分子胰岛素同时生成 1 分子 C 肽, 因此血液中 C 肽水平与内源性胰岛素呈正相关性。实验中在胰岛素给药后采集包括 0 时刻的各时间点血样, 分别测定胰岛素浓度和 C 肽浓度, 用血浆中犬 C 肽浓度来校正犬内源胰岛素对外源性胰岛素测定的影响, 结果能够满足试验的要求。

精蛋白重组人胰岛素注射液(预混 50/50)与已上市的同类制剂 50/50 混合重组人胰岛素注射液在 12 只健康 Beagle 犬体内交叉给药后, 两种制剂的主要药动学参数, 用 DAS 2.0 药动学软件进行分析, 结果均满足等效性对比的合格标准。同时药效学结果也充分表明, 因此两种制剂在体内有非常一致的降糖过程, 充分说明了两种制剂具有生物等效性。

参考文献

- [1] Sanlioglu A D, Altunbas H A, Balci M K, *et al.* Clinical utility of insulin and insulin Analogs [J]. *Islets*, 2013, 5(2): 67-78.
- [2] Strang A C, van Wijk D F, Mutsaerts H J M M, *et al.* Guideline treatment results in regression of atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabetes Vasc Dis Res*, 2015: 1479164114559511.
- [3] 吕则贤, 刘吉宇. 甘精胰岛素联合诺和锐强化治疗 2 型糖尿病临床疗效观察 [J]. *吉林医学*, 2013, 34(35): 7403-7404.
- [4] Hausenblas H A, Schoulda J A, Smoliga J M. Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus--systematic review and meta-analysis [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(1): 147-159.
- [5] Jacobsen L V, Sogaarb B, Riis A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a premixed formulation of soluble and protamine-retarded insulin aspart [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2000, 56 (5): 399-403.
- [6] 毛晓明, 梁秉文, 饶亚萍, 等. 胰岛素经皮给药的药代动力学研究 [J]. *中国药学杂志*, 2000, 35(11): 760-762.
- [7] 邵明立, 顾慰萍, 郭永吉. 放射性药品手册 [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部药政管理局, 国家原子能机构同位素管理办公室, 1997.